Póster PO-158 presentado en la LI Reunión Nacional de la AEHH. XXV Congreso de la SETH. 12-14 de noviembre de 2009, Barcelona

# Análisis de los genes *C-CBL*, *CBL-B* y *CBL-C* en Neoplasias Mieloproliferativas Crónicas *BCR-ABL1* y *V617FJAK2* negativas

Aranaz P, Hurtado C, Ormazábal C, Erquiaga I, García-Delgado M, Calasanz MJ, Novo FJ, Vizmanos JL

Departamento de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Navarra; Pamplona, Navarra

## Fundamentos

Las neoplasias mieloproliferativas crónicas (NMPCs) *BCR-ABL1* negativas son un grupo heterogéneo de enfermedades clonales cuya causa molecular se conoce sólo parcialmente y en el que parecen estar implicadas ciertas alteraciones en genes codificantes de proteínas con actividad tirosínquinasa. Estudios recientes han mostrado que *C-CBL* se encuentra mutado en neoplasias de origen mieloide, lo que demuestra que, en la génesis de estas enfermedades, también existen alteraciones en otras proteínas que participan en las mismas vías de señalización que las tirosínquinasas.

C-CBL (*Casitas B-lineage Lymphoma*), junto con CBL-B y CBL-C, forman una familia de proteínas con actividad E3 ubiquitina-ligasa que regulan negativamente la actividad de numerosas tirosínquinasas, contribuyendo a su degradación.

## Objetivo

Nuestro objetivo es detectar posibles alteraciones en *C-CBL*, *CBL-B* y *CBL-C* que pudieran ser la causa de la enfermedad en un grupo de pacientes con NMPC *BCR-ABL1* y V617F*JAK2* negativas. A pesar de que la mayor parte de los estudios hasta la fecha han identificado mutaciones únicamente en el dominio *RING finger*, hemos analizado toda la región codificante de dichos genes.

## Material y métodos

Se han analizado todos los exones codificantes de los genes *C-CBL*, *CBL-B* y *CBL-C* mediante dHPLC en 44 muestras de pacientes con NMPCs *BCR-ABL1* y V617F*JAK2* negativas. Los perfiles anómalos detectados han sido analizados posteriormente mediante secuenciación (figura 1). Hemos incluido además 20 individuos control sin enfermedad para comprobar la frecuencia en la población de las variantes tipo SNP detectadas.

## Resultados y conclusiones

La mayor parte de los cambios detectados corresponden a SNPs descritos en estos genes. También se han identificado 7 variantes de secuencia no descritas hasta la fecha (3 en *C-CBL*, 2 en *CBL-B* y 2 en *CBL-C*) en siete individuos diferentes (MFI y atípicas) . Dos de estos cambios, detectados en dos pacientes con NMPC atípicos, producen la sustitución del aminoácido codificado, uno en el exón 9 (C416W) y otro fuera del dominio *RING finger* en el exón 12 (A678V). En la actualidad estamos llevando a cabo estudios funcionales que determinen el efecto biológico de estas alteraciones.

Además, se ha detectado otra variante con cambio de aminoácido en el exón 9 de *CBL-C* (P435S). Sin embargo, en este caso, podría tratarse de un polimorfismo no descrito ya que aparece también en los individuos control. El resto de mutaciones detectadas corresponden a cambios sin efecto en la secuencia codificada.

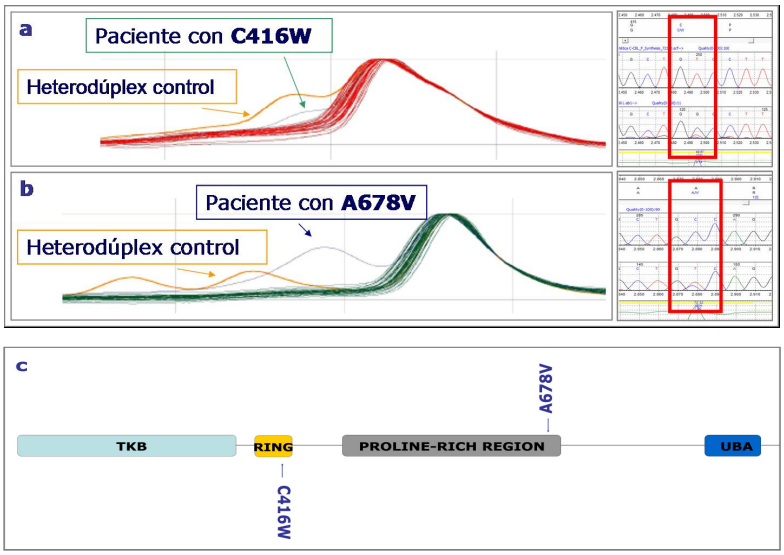


Figura 1. a) Perfil de elución para el exón 9 de *C-CBL*. La muestra que presenta la mutación C416W (72251 T>G) corresponde a la coloreada en verde. b) Perfil de elución detectado por dHPLC para el exón 12 de *C-CBL*. La muestra coloreada en azul corresponde al paciente que presenta la mutación A678V (81664 C>T). En cada uno de los ensayos de dHPLC incluimos un control heterodúplex, creado artificialmente (muestra naranja). En ambos casos puede diferenciarse la muestra que presenta la mutación del resto, que aparecen agrupadas (grupo rojo en (a) y grupo verde en (b))

En ambos casos se muestra a la derecha la imagen del resultado de la secuenciación y su análisis mediante el programa *Mutation Surveyor v3.1*.

c) Representación gráfica de la posición de las mutaciones encontradas en la estructura de C-CBL.

**Este trabajo ha sido financiado con ayudas del Fondo de Investigación Sanitaria del Instituto Carlos III (FIS PI040037) del Ministerio de Ciencia e Innovación (SAF2007-62473), del Plan de Investigación de la Universidad de Navarra (Línea Especial) y de la Fundación Caja Navarra a través del Programa "Tú eliges, tú decides" (Proyecto 10.830)**